Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir



Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 723-739

# Effect of Water Stress and Urban Wastewater on the Heavy Metals Concentration, Yield and Quality of Basil

S. Shiukhy Soqanloo[1]*, M.A. Gholami[2], Y. Ghasemi[3]

| Received: 24-10-2022<br>Revised: 15-01-2023<br>Accepted: 16-01-2023<br>Available Online: 16-01-2023 | **How to cite this article:**<br>Shiukhy Soqanloo, S., Gholami, M.A., & Ghasemi, Y. (2023). Effect of water stress and urban wastewater on the heavy metals concentration, yield and quality of basil. *Journal of Horticultural Science*, *37*(3), 723-739. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79332.1203 |
|---|---|

## Introduction

Confronting the crisis of water scarcity and the looming challenge of dwindling water resources is undeniably a grave concern. Consequently, the focus of agricultural science researchers has shifted towards the utilization of wastewater. One of the notable advantages of incorporating wastewater in agriculture is the potential to curtail the expenses associated with procuring irrigation water and employing chemical fertilizers.

## Materials and Methods

Sari has a longitude and latitude of 53°01′ E and 36°33′ N, respectively, and its weather conditions are humid according to De-marten's climate classification. Its elevation is 21 above sea level and average annual temperature and precipitation, are17.9 ºC and 650 mm, respectively). In order to evaluate the effect of water stress and urban wastewater on the concentration of heavy metals, yield and some characteristics of basil, an experiment in a factorial format based on a completely randomized design with experimental treatments including; The first factor is the source of irrigation (I): [treated wastewater (TWW) and well water (WW)], and the second factor is water stress (S): [the lowest stress (S1, S2), medium stress (S3, S4) and severe stress (S5, S6)] were performed in three replications at the research farm of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources (SANRU), Iran. Finally, the obtained data were analyzed using ANOVA of $SAS_{9.2}$, and the SNK post hoc test was employed to compare treatment means.

## Results and Discussion

Based on the findings, Irrigation with wastewater increased plant height, stem diameter, fresh and dry weight compared to irrigation with well water. So that the highest plant height, stem diameter, wet and dry weight were related to irrigation with wastewater with 44.3 cm, 3.1 mm, 8.5 and 3.3 g, respectively. Also, the effect of using treated wastewater on chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids was significant ($P \leq 0.01$). while it did not have significant effect on flavonoid, phenol and antioxidant activity. In the lowest stress, especially the S1 level, the amount of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid, flavonoid, phenol and antioxidant activity compared to the S6 level decreased by 63.3, 32.8, 40.7, 45.8, 46.3, 55.5, and 9.8%, respectively. while the highest amount of plant height, fresh weight, dry weight and stem diameter at the S1 level was observed with 48.6 cm, 11.5 g, 3.51 g and 3.4 mm, respectively. The result shown that the Pb and Cd concentration in basil under irrigation with wastewater was 3.4 and 2.5 $mg.kg^{-1}$, respectively, which increased by 13 and 9% compared to well water. Water stress affected the Pb and Cd concentration, but the Cr

1- Assistant Professor of Agro-Meteorology, Department of Water Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran
(*- Corresponding Author Email: S.Shiukhy@sanru.ac.ir)
2- Associate Professor of Irrigation and Drainage, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran
3- M.Sc Graduated, Horticulture Department of Sari Agriculture Science and Natural Resources University, Sari, Iran
https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79332.1203

and Ni concentration did not change significantly. The highest Pb and Cd concentration was related to high stress level S5 and medium stress level S4 and the lowest level was observed in the lowest stress levels (S1 and S2). Also, the results showed that the Pb and Cd concentration was affected by the interaction effect of irrigation source and water stress. Thus, the highest Pb concentration was observed in irrigation with wastewater and water stress levels S4 and S5 with 3.41 and 3.40 $mg.kg^{-1}$, respectively, and the lowest was related to irrigation with well water and water stress level S1 with 2.2 $mg.kg^{-1}$. The highest Cd concentration was related to irrigation with wastewater and stress levels S4 and S5 with 2.6 and 2.5 mg/kg, respectively, and the lowest amount were observed in well water irrigation and stress levels S1 and S2, with 1.51 and 1.50 $mg.kg^{-1}$, respectively. while the Cr and Ni concentrations did not significant.

## Conclusion

Based on the findings of this research, irrigation with treated wastewater and application of water stress had significant effect on the morphological and phytochemical characteristics of basil. while the use of treated wastewater was ineffective on the biochemical characteristics of basil and only water stress conditions affected their levels. The Pb and Cd concentration in basil increased under the influence of irrigation with wastewater and water stress levels. But this increase was lower than the standards authorized reported by the researchers and did not cause much concern. the results shown that the water stress levels S4 and S5 can be considered appropriate in water efficiency and recommend the use of treated wastewater in basil irrigation considering the authorized standards.

**Keywords:** Antioxidant activity, Cadmium, Plant height, Sever stress, Total chlorophyll

**نشریه علوم باغبانی**
https://jhs.um.ac.ir

**مقاله پژوهشی**
جلد ۳۷، شماره ۳، پاییز ۱٤۰۲، ص. ۷۳۹-۷۲۳

# تأثیر تنش آبی و پساب شهری بر غلظت فلزات سنگین، عملکرد و ویژگی‌های کیفی ریحان (*Ocimum basilicum* L.)

**سعید شیوخی سوغانلو[۱]*- محمدعلی غلامی[۲]- یوسف قاسمی[۳]**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۰۲
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۶

## چکیده

به‌منظور ارزیابی تأثیر تنش آبی و پساب شهری بر غلظت فلزات سنگین، عملکرد و برخی ویژگی‌های گیاه ریحان، آزمایشی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با تیمارهای آزمایشی شامل؛ عامل اول منبع آبیاری (I) در دو سطح (پساب و آب چاه) و عامل دوم تنش آبی (S) در شش سطح کم‌ترین تنش (S1 and S2)، تنش متوسط (S3 and S4) و تنش شدید (S5 and S6) در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری اجرا شد. بر پایه یافته‌ها، آبیاری با پساب باعث افزایش ارتفاع گیاه، وزن تر، وزن خشک، قطر ساقه، میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در مقایسه با آبیاری با آب چاه شد. در حالی‌که تأثیر چندانی بر میزان فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نداشت. در شرایط ایجاد کم‌ترین تنش بویژه سطح S1، میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ ریحان به‌ترتیب با کاهش ۶۳/۳، ۳۲/۸، ۴۰/۷، ۴۵/۸، ۴۶/۳، ۵۵/۵ و ۹/۸ درصدی نسبت به شرایط تنش شدید S6، روبه‌رو شد. این در حالی بود که بیشترین میزان ارتفاع گیاه، وزن تر، وزن خشک و قطر ساقه در سطح کم‌ترین تنش S1، به‌ترتیب با ۴۸/۶ سانتی‌متر، ۱۱/۵ و ۳/۵۱ گرم در تک بوته و ۳/۴ میلی‌متر مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که غلظت فلزات سرب و کادمیوم تحت تاثیر اثر متقابل منبع آبیاری و تنش آبی قرار گرفت. به طوری‌که بیشترین غلظت سرب و کادمیوم در تیمار آبیاری با پساب و سطوح تنش S4 و S5 به‌ترتیب با ۱۳/۴۲، ۱۳/۴۰، ۱۰/۵۰ و ۱۰/۵۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. این در حالی بود که غلظت فلزات کروم و نیکل دستخوش تغییرات چندانی نشد. بر پایه یافته‌ها، می‌توان سطوح تنش S4 و S5 را در بهره‌وری آب مناسب دانست و استفاده از پساب شهری در آبیاری گیاه ریحان را با در نظر گرفتن استانداردهای مجاز موجود، توصیه کرد.

**واژه‌های کلیدی:** ارتفاع گیاه، تنش شدید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کادمیوم، کلروفیل کل

## مقدمه

نیاز روزافزون به فرآورده‌های کشاورزی و افزایش تقاضا برای آب و غذا در پی افزایش جمعیت، افزایش فراوانی رویدادهای حدی اقلیمی بویژه خشکسالی‌ها و افزایش کمبود منابع آب باعث شده‌اند که تقاضا برای منابع آب شیرین در اکثر مناطق کشور به اوج خود برسد. نتیجه این تقاضا افزایش بی‌رویه برداشت از منابع آب زیرزمینی در مقایسه با سایر کشورها می‌باشد (Badiei *et al.*, 2016). با توجه به شرایط موجود، بحران کم‌آبی و چالش کمبود منابع آب در آینده‌ای نه چندان دور، تهدید بسیار جدی و انکارناپذیری به‌حساب می‌آید. بنابراین، طی سالیان اخیر توجه برنامه‌ریزان و متخصصین علوم کشاورزی به استفاده از آب‌های نامتعارف معطوف شده است. از مزایای استفاده از پساب در کشاورزی می‌توان به کاهش هزینه تامین منبع آبِ آبیاری، کاهش هزینه استفاده از کودهای شیمیایی و کاهش آلودگی منابع آب

۱- استادیار هواشناسی کشاورزی، گروه مهندسی آب، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: s.shiukhy@sanru.ac.ir)
۲- دانشیار آبیاری و زهکشی، گروه مهندسی آب، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران
۳- دانش‌آموخته مهندسی باغبانی، گروه باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79332.1203

سطحی و زیرزمینی اشاره کرد (Fattahi *et al.*, 2016). پساب حاوی غلظت مطلوبی از عناصر غذایی می‌باشد که با بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و حاصلخیزی خاک، منجر به افزایش تولید محصول می‌شود (Tripathi *et al.*, 2016;Gatta *et al.*, 2015 ). از طرف دیگر برخی پیامدهای نامطلوب استفاده از پساب از جمله مواد شیمیایی موجود در فاضلاب‌ها به‌ویژه فلزات سنگینی که توانایی نفوذ و انباشت در خاک، گیاه و درنهایت زنجیره غذایی را دارند، بهره‌گیری از این منابع در کشاورزی را با تردید مواجه ساخته است (Alizadegan *et al.*, 2022a).

سواین و همکاران (Swain *et al.*, 2020) تاثیر کاربرد لجن فاضلاب[1] بر عملکرد، جذب عناصر غذایی و کارایی مصرف عناصر غذایی را مورد ارزیابی قرار دادند و اظهار داشتند که، کاربرد مقادیر بالای لجن فاضلاب نسبت به تیمار شاهد (مقدار کود معمول) باعث افزایش ارتفاع گیاه، شاخص سبزینگی[2] و وزن تر برگ‌های اسفناج شد. همچنین به استثناء فسفر و منگنز، جذب سایر عناصر غذایی در برگ‌ها نیز در اثر استفاده از مقادیر بسیار بالای لجن فاضلاب افزایش یافت. حاجی‌هاشمی و همکاران (Hajihashemi *et al.*, 2020) با بررسی تاثیر آبیاری با پساب بر فتوسنتز و رشد و نمو دو رقم گندم بیان نمودند که استفاده از پساب منجر به افزایش ویژگی‌های فتوسنتزی شامل فلورسنس کلروفیل، فتوسنتز خالص، کارآیی مصرف آب و رنگدانه‌های فتوسنتزی شد و در پی آن ارتفاع گیاه، شاخص سطح برگ و عملکرد دانه نیز افزایش یافت. نتایج چاگانتی و همکاران (Chaganti *et al.*, 2020) نشان داد که آبیاری با پساب تصفیه‌شده شهری بر زیست-انرژی[3] سورگوم تاثیر چندان قابل توجهی نداشت اما با گذشت زمان و در طول دوره‌ی رشد و نمو گیاه، کیفیت خاک تحت تاثیر آبیاری با پساب قرار گرفت و در نهایت باعث افزایش شوری خاک شد. ماهفوز و همکاران ( Mahfooz *et al.*, 2020)، با تحلیل ریسک بحرانی سمیت فلزات در خاک آبیاری شده با پساب و محصولات زراعی بیان کردند که میانگین مقادیر سرب و روی در محصول بیشتر از استانداردهای سازمان خواربار و کشاورزی در مورد مواد افزودنی و آلاینده‌های غذایی بود.

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) یکی از گیاهان باغی مهم متعلق به تیره نعناع (Lamiaceae) می‌باشد که به‌عنوان گیاه دارویی، ادویه‌ای و همچنین به‌صورت سبزی تازه مورد استفاده قرار می‌گیرد (De Masi *et al.*, 2006). از آنجایی که کشور ایران در بخشی از کره زمین قرار گرفته که در بسیاری از نقاط آن نزولات جوی نیاز آبی گیاهان زراعی و باغی را تامین نمی‌کند (Shiukhy-Soqanloo *et al.*, 2021b)، بررسی تنش‌های محیطی و نقش آنها در ارزیابی رشد و عملکرد محصولات زراعی و باغی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. تنش‌های غیر زیستی محدودیت قابل توجهی برای تولید محصول و امنیت غذایی در سرتاسر جهان محسوب می‌شوند (Shiukhy-Soqanloo *et al.*, 2021a). گیاهان در مواجهه با تنش های محیطی پاسخ‌های متفاوتی از جمله؛ تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، متابولیکی، بیوشیمیایی و مولکولی را نشان می‌دهند که در نهایت رشد و نمو گیاه را با محدودیت مواجه ساخته و باعث کاهش عملکرد می‌شوند (Moghadam *et al.*, 2015). این امر باعث می شود گیاهان در سازگاری با شرایط بروز تنش با توجه به نوع گونه گیاه و زمان وقوع تنش در هر یک از مراحل رشد و نمو، پاسخ متفاوتی را نشان دهند (Shiukhy-Soqanloo *et al.*, 2021b). از پیامدهای ناشی از تنش خشکی (کمبود آب) می‌توان به کاهش رشد و نمو اندام‌های زیرزمینی (ریشه) و هوایی گیاه، عملکرد و اجزای عملکرد بویژه ارتفاع و وزن خشک، کاهش فعالیت فتوسنتزی و فرآورده‌های آن، کاهش تعرق گیاه و تخریب آنزیم‌ها اشاره کرد ( Kamali *et al.*, 2012). رای و همکاران (Ray *et al.*, 2018)، اثرات خشکسالی بر عملکرد گیاهان زراعی در ۱۰ منطقه اقلیمی در تگزاس در طی سال-های ۲۰۰۸ تا ۲۰۱۶ را بررسی کردند و نتایج آنها نشان داد که خشکسالی تأثیر بیشتری بر عملکرد گندم زمستانه و ذرت داشت این در حالی بود که تأثیر کمتری بر تولید پنبه و سورگوم در سراسر تگزاس نشان داد. در رابطه با واکنش گیاهان دارویی و معطر در شرایط تنش آبی بررسی‌های کم‌تری در مقایسه با گیاهان زراعی انجام شده است. لذا هدف از این پژوهش ارزیابی تاثیر پساب بر عملکرد، اجزای عملکرد و انباشت فلزات سنگین تحت شرایط تنش آبی در گیاه بود.

## مواد و روش‌ها

شهرستان ساری دارای طول و عرض جغرافیایی به‌ترتیب 53°01′ E و 36°33′ N است، که شرایط آب و هوایی آن براساس طبقه‌بندی اقلیمی دومارتن، مرطوب می‌باشد. این منطقه دارای ارتفاع ۲۱ متر بالاتر از سطح دریا، میانگین دمای سالانه بلند مدت ۱۷/۹ درجه سانتی‌گراد و میانگین سالانه بارندگی بلند مدت ۶۵۰ میلی‌متر می‌باشد. به‌منظور ارزیابی تاثیر پساب بر عملکرد، اجزای عملکرد و انباشت فلزات سنگین در گیاه ریحان تحت شرایط تنش آبی، آزمایشی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با تیمارهای آزمایشی شامل؛ عامل اول منبع آبیاری (I) در دو سطح (پساب تصفیه شده (TWW)[4] و آب چاه[5] (WW))، و عامل دوم تنش آبی (S) در شش

1- Sewage sludge
2- Greenness index
3- Bioenergy
4- Treated wastewater
5- Well water

سطح کم‌ترین تنش ((S1: 12hr (125ml); S2: 24hr(250ml))، تنش متوسط ((S3: 48hr(250ml); S4: 72hr(500ml)) و تنش شدید ((S5: 72hr(250ml) and S6: 48hr(125ml)) در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری اجرا شد. در این آزمایش گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی به ارتفاع ۱۸ و عرض دهانه ۲۰ سانتی متر بودند و از خاک با بافت شنی لومی (شن ۷۴ درصد، سیلت ۱۶ درصد و رس ۱۰ درصد) به نسبت ۱:۱ از خاک سطح الارض و ماسه (Moghadam *et al.*, 2015) پر شدند. بافت خاک به روش هیدرومتر، اسیدیته و قابلیت هدایت الکتریکی به روش عصاره اشباع، کربن و ماده آلی خاک به روش والکی بلک، اندازه‌گیری میزان ازت کل، پتاسیم و فسفر قابل جذب خاک به‌ترتیب با روش‌های کجلدال، فلیم فتومتر و اولسن انجام شد. پس از آماده‌سازی گلدان‌ها، ۲۰ عدد بذر داخل هر گلدان در ۲۵ اردیبهشت سال ۱۴۰۱، کاشته شد و پس از سبز شدن، بوته‌ها در طی چند مرحله تنک شدند و در نهایت در داخل هر گلدان ۵ بوته نگهداری شد. تا یک ماه پس از کاشت (۸-۶ برگی شدن بوته‌ها)، گلدان‌ها با دور و مقدار مساوی آبیاری شدند و پس از این مرحله، تیمارهای آبیاری و تنش آبی اعمال شد. جزئیات بیشتر از منابع آب آبیاری در جدول ۱ و نحوه اعمال تنش‌ها در جدول ۲ ارایه شدند. در طول دوره رشد، گلدان‌ها در هوای آزاد نگهداری شدند. همچنین به‌منظور جلوگیری از ورود آب باران به درون گلدان‌ها، از سامانه پوششی مناسب استفاده شد.

در مرحله‌ای که ۸۰ درصد بوته‌ها به گل رفتند صفات رویشی شامل وزن تر اندام‌های هوایی (ساقه و برگ)، ارتفاع بوته اندازه‌گیری شد. سپس بوته‌های برداشت شده (از سطح ۳ سانتی‌متری خاک) در آون و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت و پس از آن وزن خشک با توزین نمونه‌ها بدست آمد (Karimi *et al.*, 2020).

**جدول ۱- حداکثر حد مجاز استفاده از پساب برای مصارف کشاورزی بر اساس استاندارد سازمان‌های محیط‌زیست ایران، بهداشت جهانی و خواروبار کشاورزی (Alizadegan *et al.*, 2022b)، ویژگی‌های مربوط به پساب و آب چاه مورد استفاده و ویژگی‌های خاک محل آزمایش**

**Table 1- The maximum authorized standards for the use of wastewater for agricultural purposes based on the IRNDOE, WHO and FAO (Alizadegan *et al.*, 2022b), and the characteristics of the wastewater and well water used and the characteristics of the experimental soil**

| ویژگی‌ها Characteristics | pH | NTU | TDS | TSS | EC | TP | COD | N | Ca | Na | Mg | Pb | Cd |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ($ds.m^{-1}$) | ($mg.l^{-1}$) | | | | | | ($\mu g.l^{-1}$) | |
| پساب (TWW) | 8.1 | 2.9 | 663 | 27 | 1.06 | 4.9 | 17 | 0.5 | 100 | 58 | 18.1 | 0.13 | 0.01 |
| چاه (WW) | 7.2 | 9.9 | 629.3 | 16 | 0.78 | 2.2 | 11.1 | 0.5 | 60 | 69 | 16.1 | 0.06 | 0.001 |
| محیط‌زیست ایران (IRNDOE) | 6-8.5 | 50 | - | 100 | - | 6 | 200 | - | - | - | 100 | 0.05 | 1 |
| بهداشت جهانی (WHO, 1992) | 6-8.5 | - | 450 | - | 0.7 | 4 | - | - | - | - | - | 0.01 | 5 |
| خواروبار کشاورزی (FAO, 2006) | 6-8.5 | - | 450 | - | 0.7 | 4 | - | - | - | - | - | 0.01 | 5 |

| | عمق Depth (cm) | بافت Texture | اسیدیته Acidity pH | هدایت الکتریکی Electrical conductivity ($ds.m^{-1}$) | ماده آلی Organic matter OM (%) | کربن آلی Organic carbon OC (%) | فسفر قابل جذب Absorbable phosphorus (P) (ppm) | پتاسیم Potassium (K) (ppm) | ازت کل Total nitrogen (%)(N) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| خاک Soil | 0-20 | Sand-loam | 7.2 | 0.55 | 1.72 | 0.52 | 4 | 146 | 0.1 |
| | | سرب Lead Pb ($mg.kg^{-1}$) | کادمیوم Cadmium Cd ($mg.kg^{-1}$) | نیکل Nickel (Ni) ($mg.kg^{-1}$) | کرم Chrome (Cr) ($mg.kg^{-1}$) | | | | |
| | | 1.12 | 0.05 | 0.04 | 0.02 | | | | |

NTU (Nephelometric Turbidity Unit): کدورت، TDS (Total Dissolved Solid): مواد جامد محلول، TSS (Total Suspended Soluble): مواد جامد معلق، EC (Electrical Conductivity): هدایت الکتریکی، TP (Total Phosphorous): فسفر کل، COD (Chemical Oxygen Demand): اکسیژن خواهی شیمیایی

جدول ۲- سطوح مختلف تنش آبی در تیمارهای آزمایش در طول دوره‌ی رشد و نمو گیاه ریحان

Table 2- The different levels of water stress in the experimental treatments during the period of basil growth season

| میزان تنش<br>Amount of stress | تنش آبی<br>Water stress | منبع آبیاری<br>Source of irrigation |
|---|---|---|
| کم‌ترین تنش<br>The least stress | هر ۱۲ ساعت، ۱۲۵ میلی‌لیتر آب (S1: 12hr (125ml))<br>هر ۲۴ ساعت، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب (S2: 24hr(250ml)) | چاه<br>Well water |
| تنش متوسط<br>Middle stress | هر ۴۸ ساعت، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب (S3: 48hr(250ml))<br>هر ۷۲ ساعت، ۵۰۰ میلی‌لیتر آب (S4: 72hr(500ml)) | |
| تنش شدید<br>Sever stress | هر ۷۲ ساعت، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب ((S5: 72hr(250ml))<br>هر ۴۸ ساعت، ۱۲۵ میلی‌لیتر آب ((S6: 48hr(125ml)) | |
| کم‌ترین تنش<br>The least stress | هر ۱۲ ساعت، ۱۲۵ میلی‌لیتر آب (S1: 12hr (125ml))<br>هر ۲۴ ساعت، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب (S2: 24hr(250ml)) | پساب<br>Treated wastewater |
| تنش متوسط<br>Middle stress | هر ۴۸ ساعت، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب (S3: 48hr(250ml))<br>هر ۷۲ ساعت، ۵۰۰ میلی‌لیتر آب (S4: 72hr(500ml)) | |
| تنش شدید<br>Sever stress | هر ۷۲ ساعت، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب ((S5: 72hr(250ml))<br>هر ۴۸ ساعت، ۱۲۵ میلی‌لیتر آب ((S6: 48hr(125ml)) | |

## اندازه‌گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی

برای اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید از روش رنگ‌سنجی کلرید آمونیوم استفاده شد. عدد بدست آمده برای فلاونوئید با رجوع به منحنی استاندارد تبدیل به میزان واقعی گردید و در نهایت بر حسب اکی‌والان کوئرستین در یک گرم عصاره خشک محاسبه شد (Ghasemi *et al.*, 2009;Ebrahimzadeh *et al.*, 2008). اندازه گیری محتوای ترکیبات فنلی کل با استفاده از روش معرف فولین سیو-کالتیو انجام شد. عدد بدست آمده برای ترکیبات فنلی کل با رجوع به منحنی استاندارد تبدیل به میزان واقعی شد و در نهایت بر حسب اکی‌والان گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک محاسبه شد (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008;Nabavi *et al.*, 2008).

## اندازه‌گیری ویژگی‌های فیتوشیمیایی

برای تعیین میزان کلروفیل و کارتنوئید گیاه ریحان نخست ۰/۵ گرم از برگ جوان بالایی برداشت و هر نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد درآمیخته شد، پس از آن نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شدند. پس از سپری شدن ۲۴ ساعت، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شدند و با دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر ثبت شد (Raeini and Shiukhy, 2014). با استفاده از روابط زیر میزان کلروفیل a، b، a*b و میزان کارتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تازه نمونه محاسبه شد.

$$\text{Chlorophyll a (mg/g.f.w)}=12.7(A663)-2.69(A645)\times v/1000\times w \quad (۱)$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g.f.w)}=12.9(A645)-2.69(A663)\times v/1000\times w \quad (۲)$$

$$\text{Chlorophyll a*b (mg/g.f.w)}=20.2(A645)-8.02(A663)\times v/1000\times w \quad (۳)$$

$$\text{Carotenoid (mg/g.f.w)}=7.6(A480)-1.49(A510)\times v/1000\times w \quad (۴)$$

## اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین در خاک

مقدار ۱۰ گرم خاک را توزین کرده و در ارلن مایر ۱۲۵ ریخته، سپس ۲۰ میلی لیتر از محلول DTPA به آن اضافه کرده و به مدت ۲ ساعت با شیکر دورانی (مدل GFL) با دور ۱۴۵ دور در تکان داده شد. سپس با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف گردید. در این عصاره مقدار جذب کادمیوم و نیکل با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل Varian بدست آمد. برای اندازه‌گیری غلظت سرب و کروم از روش عصاره گیری با EDTA+AAAC استفاده شد، نسبت خاک به عصاره ۱:۱ و به مدت ۱ ساعت با شیکر دورانی (۱۴۵دور در دقیقه) سوسپانسیون مخلوط گردید. بعد از صاف کردن نمونه، غلظت عناصر غلظت سرب و کروم با دستگاه جذب اتمی مدل Varian مورد سنجش قرار گرفت (Lindsay and Norvell, 1978).

## اندازه‌گیری غلظت فلزات سنگین در گیاه

اندازه‌گیری غلظت عناصر سنگین در گیاه نیز با استفاده از روش جذب اتمی شعله‌ای A.A.S انجام شد. اندازه‌گیری در عصاره حاصل به روش هضم به طریق سوزاندن خشک و استفاده از اسید کلریدریک و اسید نیتریک انجام گرفت. نمونه‌های استاندارد، شاهد و عصاره را با شعله آبی استیلن- هوا ابری نموده و میزان جذب سرب،کادمیوم، نیکل و کرم به‌ترتیب در طول موج‌های ۲۱۷، ۲۲۸/۸، ۲۳۲ و ۳۵۷/۹ نانومتر اندازه‌گیری شد و در نهایت غلظت عناصر در نمونه با استفاده از سیستم خوانش غلظت دستگاه بدست آمد (Elmer, 1982). مقدار عناصر در نمونه خشک گیاهی بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم به طریقه زیر محاسبه می‌شود:

$$Pb = \frac{100 * V * (a - b)}{DM * V} \quad (۵)$$

که در آن؛ a: غلظت عنصر در نمونه، b: غلظت عنصر در شاهد، V: حجم عصاره حاصل از هضم بر حسب میلی‌لیتر، W: وزن نمونه گیاه بر حسب گرم و DM: درصد ماده خشک گیاه می‌باشد.

## تجزیه آماری

در پایان داده‌های بدست آمده با بهره‌گیری از نرم‌افزار SASver9.2 تجزیه و تحلیل شدند و آزمون مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش SNK[1] در سطح ۵ درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

### ویژگی‌های مورفولوژیکی

نتایج تجزیه واریانس تاثیر منبع آبِ آبیاری و تنش آبی بر ویژگی های مورفولوژیکی گیاه ریحان نشان داد که به استثناء صفت درصد ماده خشک، تاثیر منبع آب آبیاری بر ارتفاع گیاه، وزن تر، وزن خشک و قطر ساقه دارای تفاوت معنی‌دار بود ($P \leq 0.01$). همچنین تاثیر تنش آبی بر تمامی ویژگی‌های مورفولوژیکی مورد بررسی، بسیار معنی‌دار بود ($P \leq 0.01$). بر پایه نتایج بدست آمده اثر متقابل منبع آب آبیاری و تنش آبی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه ریحان معنی دار نبود و تغییرات تقریباً یکسان بود (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که آبیاری با پساب باعث افزایش ارتفاع گیاه، وزن تر، وزن خشک و قطر ساقه در مقایسه با آبیاری با آب چاه شد. به‌طوری‌که بیشترین میزان ارتفاع گیاه و قطر ساقه به‌ترتیب با ۴۴/۳ سانتی‌متر و ۳/۱ میلی‌متر مربوط به شرایط استفاده از آبیاری با پساب بود و کم‌ترین میزان آنها، با ۴۰/۹ سانتی‌متر و ۲/۸ میلی‌متر در آبیاری با آب چاه مشاهده شد. بیشترین میزان وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه ریحان به‌ترتیب با ۸/۵ و ۳/۳ گرم در تک بوته، نیز در تیمارهای آبیاری شده با پساب مشاهده شد در حالی که کم‌ترین میزان وزن تر و خشک در شرایط آبیاری با آب چاه با ۷/۸ و ۳/۱ گرم در تک بوته بدست آمد (جدول ۴). همچنین نتایج نشان داد که در سطح کم‌ترین تنش آبی S1، بیشترین مقدار ارتفاع گیاه و قطر ساقه به‌ترتیب با ۴۸/۶ سانتی‌متر و ۳/۴۰ میلی‌متر مشاهده شد. در حالی‌که کمترین میزان آنها به‌ترتیب با ۳۷/۹ و ۳۶/۲ سانتی‌متر و ۲/۷۱ و ۲/۷۰ میلی‌متر مربوط به سطوح تنش شدید S5 و S6 بود (جدول ۴). سطح تنش شدید S6 به مقدار قابل توجهی وزن تر و خشک گیاه ریحان را تحت تاثیر خود قرار داد. به‌طوری‌که کم ترین مقدار وزن تر و خشک به‌ترتیب با ۵/۸ و ۲/۸ گرم در تک بوته، در این سطح مشاهده شد در حالی‌که بیشترین مقدار وزن تر و خشک ریحان مربوط به سطح کم‌ترین تنش S1 به‌ترتیب با ۱۱/۵ و ۳/۵۱ گرم در تک بوته بود. همچنین بیشترین میزان درصد ماده خشک به‌ترتیب با ۴۴/۷ و ۵۱ درصد در سطوح تنش شدید S5 و S6، و کمترین مقدار آن، در سطح کم‌ترین تنش S1 با ۲۶/۵ درصد مشاهده شد (جدول ۴).

منبع و کیفیت پساب شهری در مقایسه با منبع آب چاه حاوی مقدار عناصر مغذی بیشتری است و با در اختیار قراردادن این عناصر به گیاه زمینه لازم برای افزایش رشد اندام‌های گیاهی را فراهم می سازد و در نهایت با افزایش میزان بهره‌وری سامانه فتوسنتزی گیاه، افزایش عملکرد محصول را نیز به‌همراه خواهد داشت (Alizadegan *et al.*, 2022a). بر پایه گزارش قضاوی و ارست (Ghazavi and Orest, 2016)، وجود عناصر غذایی کافی در زمانی‌که گیاه مرحله زایشی را سپری می کند، نقش بسیار تعیین کننده‌ای را در پر کردن دانه‌های گیاه گندم دارد. بنابراین با آزادسازی تدریجی عناصر غذایی باعث افزایش تعداد دانه در سنبله می‌شود. در همین راستا نتایج پژوهش (Yazdani *et al.*, 2017; Nazario *et al.*, 2019; Mousavi and Shahsavari, 2014; Singh and Agrawal, 2012)، موید بسیار خوبی مبنی بر بهره‌گیری از پساب می‌باشند و معتقدند که استفاده از پساب بدلیل بهبود شرایط فیزیکی خاک و فراهمی نیتروژن در خاک، شرایط لازم برای افزایش عملکرد و اجزای عملکرد گیاه را فراهم ساخته که در نهایت افزایش محصول را در پی خواهد داشت. این نتایج با یافته‌های بدست آمده از این پژوهش همخوانی داشت این در حالی بود که پانوراس و همکاران (Panoras *et al.*, 2013)، نشان دادند که استفاده از منابع آب پساب و چاه بر میزان عملکرد گیاه ذرت تفاوت چندان قابل توجهی نداشت. از طرف دیگر گیاه با قرار گرفتن در معرض تنش خشکی، دچار کاهش آماس سلولی، سنتز آنزیم‌ها و مواد دیواره سلولی می‌شود. از این‌رو گیاه برای تحمل تنش دچار کاهش در رشد و نمو و در نتیجه ارتفاع گیاه می‌شود (Maleki *et al.*, 2012). خشکی در دوره طولانی شدن ساقه، به دلیل تأثیر منفی بر تشکیل گل و باروری باعث کاهش تعداد دانه در واحد سطح می‌شود. این کاهش ممکن است با کاهش رشد و نمو گیاه مرتبط باشد که منجر به کاهش ظرفیت منبع در گیاهان تحت تنش خشکی در مقایسه با گیاه تحت آبیاری کامل شود (Francia *et al.*, 2013).

در شرایط وجود خشکی روند انتقال فرآورده‌های فتوسنتزی بدلیل کاهش تعرق گیاه کند شده و شاخص برداشت نیز دچار کاهش خواهد شد (Shiukhy-Soqanloo *et al.*, 2021b). نتایج حلیم و همکاران (Halim *et al.*, 2018) نیز موید کاهش شاخص برداشت در شرایط تنش بود و نشان دادند که اثر تنش خشکی بر تعداد غلاف، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و همچنین درصد روغن و پروتئین دانه بسیار تاثیرگذار بود. وحدی و قلی‌نژاد (Vahdi and Gholinezhad, 2015)

1- Student-Nueman-Kouel

نیز اظهار داشتند که صفاتی از جمله؛ تعداد کل گره، تعداد شاخه فرعی، تعداد کل غلاف، تعداد دانه در بوته، عملکرد دانه، وزن هزاردانه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفتند. مطالعات مذکور و همچنین نتایج مهربان و همکاران (Mehraban *et al.*, 2019)، با یافته‌های این پژوهش مبنی بر کاهش ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه در شرایط بروز تنش خشکی مطابقت داشت.

**جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تاثیر منبع آبِ آبیاری و تنش آبی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی ریحان.**

**Table 3- The ANOVA results for the effect of irrigation water source and water stress on the morphological characteristics of basil**

| منبع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | میانگین مربعات Mean squares | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ارتفاع گیاه Plant height | وزن تر Fresh weight | وزن خشک Dry weight | درصد ماده خشک Dry matter | قطر ساقه Stem diameter |
| منبع آبیاری Water source (W.S) | 1 | 104.38** | 4.818* | 0.49** | 44.667ns | 0.5878** |
| تنش Stress (S) | 5 | 149.9491** | 26.2046** | 0.3849** | 441.1249** | 0.6478** |
| W.S × S | 5 | 6.5176ns | 0.0784ns | 0.0526ns | 17.0284ns | 0.1057ns |
| خطا (Error | 24 | 96.3133 | 26.027 | 1.267 | 1254.4734 | 1.2467 |
| ضریب تغییرات C.V(%) | - | 4.6 | 12.6 | 7.1 | 13.6 | 7.5 |

**، * و ns به‌ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۱، ۵ و عدم معنی‌داری می‌باشند.

**, * and ns significant at p≤0.01 , p≤0.05 and non-significant, respectively.

**جدول ٤- نتایج مقایسه میانگین تاثیر منبع آب آبیاری و تنش آبی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی ریحان**

**Table 4- The effect of irrigation water source and water stress on the morphological characteristics of basil**

| تیمار Treatment | سطح تیمار Level | ویژگی‌های مورفولوژیکی (Morphological characteristics) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ارتفاع گیاه Plant height (cm) | وزن تر Fresh weight (g) | وزن خشک Dry weight (g) | درصد ماده خشک Dry matter (%) | قطر ساقه Stem diameter (mm) |
| منبع آب Water source | پساب (TWW) | 44.3a | 8.5a | 3.3a | 42a | 3.1a |
| | چاه (WW) | 40.9b | 7.8b | 3.1b | 39.8b | 2.8b |
| تنش آبی Water stress | S1 | 48.6a | 11.5a | 3.51a | 26.5c | 3.40a |
| | S2 | 46.8ab | 9.7b | 3.50ab | 35.6b | 3.30a |
| | S3 | 41.1b | 7.1c | 3.20b | 43.4ab | 2.90bc |
| | S4 | 45c | 8c | 3.10b | 44.2ab | 3.03b |
| | S5 | 37.9d | 6.8dc | 3b | 44.7a | 2.71c |
| | S6 | 36.2d | 5.8d | 2.8c | 51a | 2.70c |

در هر ستون اعداد دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون SNK ندارند.

In each column, the numbers with similar letters are not significantly different based on SNK test (p≤0.05)

S1: 12hr (125ml), S2: 24hr (250m), S3: 48hr (250ml), S4: 72hr (500ml), S5: 72hr (250ml), S6: 48hr (125ml)

## ویژگی‌های فیتوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس تاثیر منبع آب آبیاری بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید برگ گیاه ریحان دارای تفاوت بسیار معنی‌دار بود (P ≤ 0.01). تاثیر تنش آبی بر تمامی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه ریحان نیز، بسیار معنی‌دار بود (P ≤ 0.01). همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل منبع آب آبیاری و تنش آبی بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید برگ گیاه ریحان دارای تفاوت معنی‌دار بود. (جدول ۵).

جدول ۵- تجزیه واریانس تاثیر منبع آبِ آبیاری و تنش آبی بر ویژگی‌های فیتوشیمیایی ریحان

Table 5- The ANOVA results for the effect of irrigation water source and water stress on the phytochemical characteristics of basil

| منبع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | کلروفیل a Chlorophyll a | کلروفیل b Chlorophyll b | کلروفیل کل Total Chlorophyll | کارتنوئید Carotenoid |
|---|---|---|---|---|---|
| منبع آبیاری (W. S) Water source | 1 | 0.2178** | 0.0336** | 0.0576** | 0.0386** |
| تنش Stress (S) | 5 | 0.1163** | 0.0535** | 0.2384** | 0.0092** |
| منبع آبیاری × تنش W.S × S | 5 | 0.0091** | 0.0124** | 0.0362** | 0.0036** |
| خطا Error | 24 | 0.0363 | 0.015 | 0.0245 | 0.0089 |
| ضریب تغییرات C.V (%) | - | 4.8 | 3.3 | 1.9 | 6.4 |

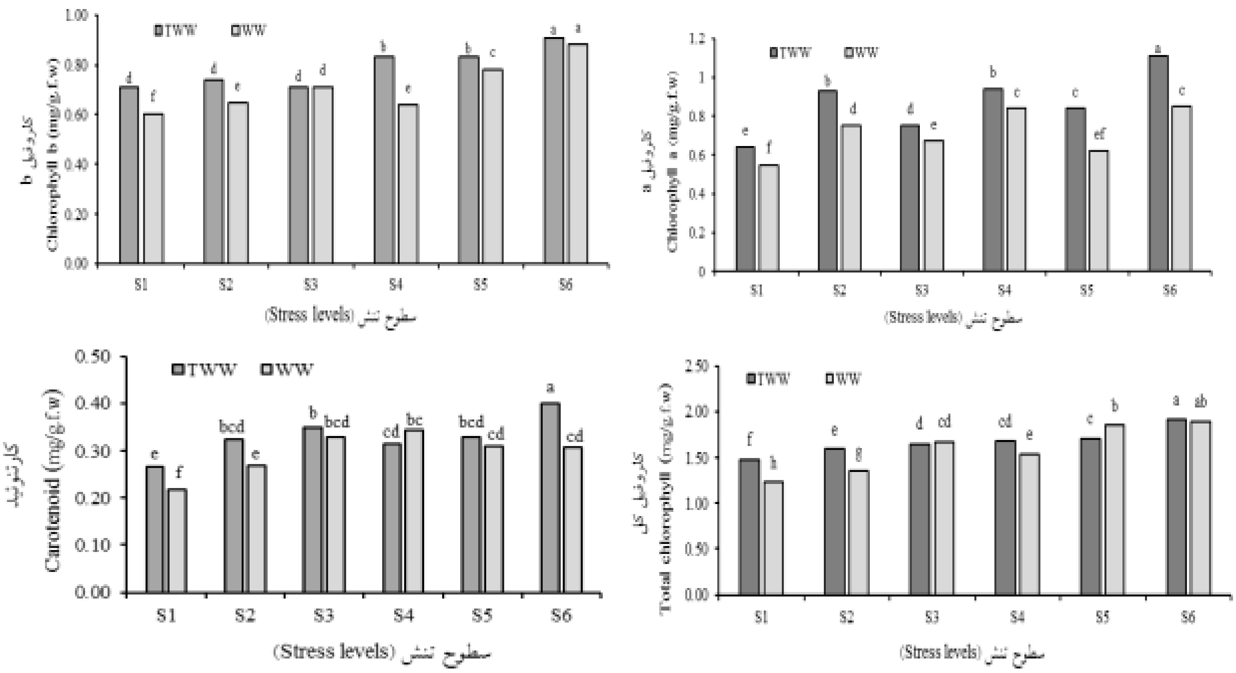
**، * و ns: به‌ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و ns عدم تفاوت معنی‌داری می‌باشد.

**, * and ns: significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, and non-significant, respectively.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، آبیاری با پساب در مقایسه با آب چاه تاثیر بسیار چشمگیر و قابل توجهی بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید برگ گیاه ریحان داشت. به طوری‌که بیش‌ترین میزان کلروفیل a در آبیاری با پساب با مقدار ۰/۸۷ میلی‌گرم در گرم وزن تازه و کم‌ترین آن در آبیاری با آب چاه با مقدار ۰/۷۱ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ ریحان مشاهده شد. بیشترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل مربوط به شرایط آبیاری با پساب به‌ترتیب با ۰/۷۸ و ۱/۶۷ میلی‌گرم در گرم وزن تازه بود و کم ترین آنها نیز به‌ترتیب با ۰/۷۲ و ۱/۵۹ میلی‌گرم در گرم وزن تازه در شرایط آبیاری با آب چاه حاصل شد. همچنین نتایج حاکی از آن بود که در شرایط استفاده از پساب بیشترین میزان کارتنوئید برگ با مقدار ۰/۳۳ میلی‌گرم در گرم وزن تازه و کم‌ترین میزان آن مربوط به شرایط آبیاری با آب چاه با مقدار ۰/۲۶ میلی‌گرم در گرم وزن تازه بود. در حالی‌که تغییرات میزان فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ریحان تحت آبیاری با هر دو منبع آبیاری بدون تغییر باقی ماند. نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بود که تاثیر تنش آبی بر تمامی ویژگی‌های فیتوشیمیایی مورد مطالعه بسیار بارز و مشهود بود. به‌طوریکه بیشترین میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید در سطح تنش S6 به ترتیب با ۰/۹۸، ۰/۸۹، ۱/۹۰ و ۰/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ ریحان مشاهده شد و کم‌ترین میزان آنها، را سطح تنش S1 به‌ترتیب با ۰/۶۰، ۰/۶۷، ۱/۳۵ و ۰/۲۴ میلی گرم بر گرم وزن تازه، به خود اختصاص داد.

نتایج اثر متقابل منبع آب آبیاری و تنش آبی بر ویژگی‌های فیتوشیمیایی ریحان نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a، مربوط به شرایط آبیاری با پساب و سطح تنش S6 با مقدار ۱/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بود و کم‌ترین میزان آن، در شرایط استفاده از آبیاری با آب چاه و سطح تنش S1 با مقدار ۰/۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه مشاهده شد (شکل ۱). همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل b، در شرایط آبیاری با پساب و سطوح تنش شدید S5 و S6 به‌ترتیب با ۰/۸۸ و ۰/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه و کمترین میزان آن، مربوط به شرایط آبیاری با آب چاه و سطح تنش S1 با مقدار ۰/۶۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بود (شکل ۱). اثر متقابل منبع آب آبیاری و تنش آبی میزان کلروفیل کل و کارتنوئید ریحان را نیز تحت تاثیر قرار دادند. به‌طوری‌که بیشترین میزان کلروفیل کل و کارتنوئید در شرایط آبیاری با پساب و سطح تنش شدید S6 به‌ترتیب با ۱/۹۲ و ۰/۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه مشاهده شد و کم‌ترین میزان آنها را شرایط آبیاری با آب چاه و سطح کم‌ترین تنش S1 به‌ترتیب با ۱/۲۳ و ۰/۲۲ به‌ترتیب با ۱/۹۲ و ۰/۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه، به خود اختصاص دادند (شکل ۱).

پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاهان در شرایط بروز تنش خشکی ممکن است بلند مدت و یا کوتاه مدت (تغییرات غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید) باشد که این پاسخ ارتباط تنگاتنگی با ماهیت کمبود آب دارد و نشان دهنده توانایی حفظ قدرت منبع، در شرایط تنش خشکی می‌باشد (Razmi *et al.*, 2013). افزایش محتوای کلروفیل ممکن است به رقیق‌سازی یا تحریک پاسخ دفاعی سلولی در برابر غلظت‌های مختلف پساب نسبت داده شود. کاهش محتوای کلروفیل در غلظت‌های بالاتر پساب را می‌توان به آسیب ناشی از فلزات سنگین به سیستم فتوسنتزی PSII و همچنین تداخل در فعالیت آنزیم‌های مسئول بیوسنتز کلروفیل نسبت داد (Farooqi, 2021). علاوه بر این، فلزات سنگین همچنین ممکن است به طور رقابتی یون‌های منیزیم را از مولکول‌های کلروفیل حذف کنند یا باعث ایجاد اختلال در زنجیره انتقال الکترون شوند که ممکن است منجر به تخریب محتوای کلروفیل گیاه شود (Yang *et al.*, 2015).




**شکل ۱- اثر متقابل منبع آب آبیاری × تنش آبی بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید ریحان**

**Figure 1- The interaction effect of irrigation water source ×different levels of water stress on the chlorophyll a, b, total chlorophyll and carotenoid contents in basil (SNK, *p≤0.01*)**
**S1: 12hr (125ml), S2: 24hr (250m), S3: 48hr (250ml), S4: 72hr (500ml), S5: 72hr (250ml), S6: 48hr (125ml)**

افزایش تجمع کاروتنوئید همراه با شیب غلظت پساب ممکن است به نقش آنتی‌اکسیدانی آن در شرایط استرس نسبت داده شود. کاروتنوئید به عنوان رنگدانه کمکی برای فتوسنتز و همچنین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان که ممکن است آسیب به سلول را کاهش دهد، عمل می‌کند (Slama *et al.*, 2017). نتایج سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 2021)، نشان داد که بیشترین میزان رشد، کلروفیل کل و محتوای کربوهیدرات در میان غلظت‌های مختلف آبیاری با فاضلاب (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد)، در غلظت ۵۰ درصد از فاضلاب و کمترین آنها در غلظت ۲۵ درصد فاضلاب مشاهده شد. نتایج بوش و همکاران (Boush *et al.*, 2021)، نشان داد که اثرات کیفیت آب و کم‌آبیاری بر برخی صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه گوجه فرنگی تفاوت معنی‌دار داشت. به‌طوری‌که باعث افزایش تعداد برگ، سطح برگ، کلروفیل a ،کلروفیل b و کاروتنوئید شد. مقدم و همکاران (Moghadam *et al.*, 2015)، نشان دادند بیشترین میزان کلروفیل b در شرایط تنش شدید (۵۰ ٪ظرفیت زراعی) مشاهده شد و به‌منظور تولید بیشترین میزان اسانس، شرایط تنش شدید را پیشنهاد دادند.

نتایج این پژوهش با نتایج برخی از پژوهش‌ها از جمله ال-یاسی و همکاران (Al-Yasi *et al.*, 2020)، ای نیو و همکاران (Ai Nio *et al.*, 2018)، مطابقت داشت. اما با نتایج حاجی هاشمی و همکاران (Hajihashemi *et al.*, 2020)، دالِ بر کاهش فلورسنس کلروفیل، فتوسنتز خالص و رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط آبیاری با سطوح مختلف پساب همسو نبود.

## ویژگی‌های بیوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس تاثیر منبع آب آبیاری بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید برگ گیاه ریحان دارای تفاوت معنی‌دار نبود. اما تاثیر تنش آبی بر تمامی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه ریحان، معنی‌دار بود ($P \leq 0.01$). همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل منبع آب آبیاری و تنش آبی بر میزان فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ریحان دارای تفاوت معنی‌دار نبود (جدول ۶).

**جدول ٦- تجزیه واریانس تاثیر منبع آبِ آبیاری و تنش آبی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی ریحان**

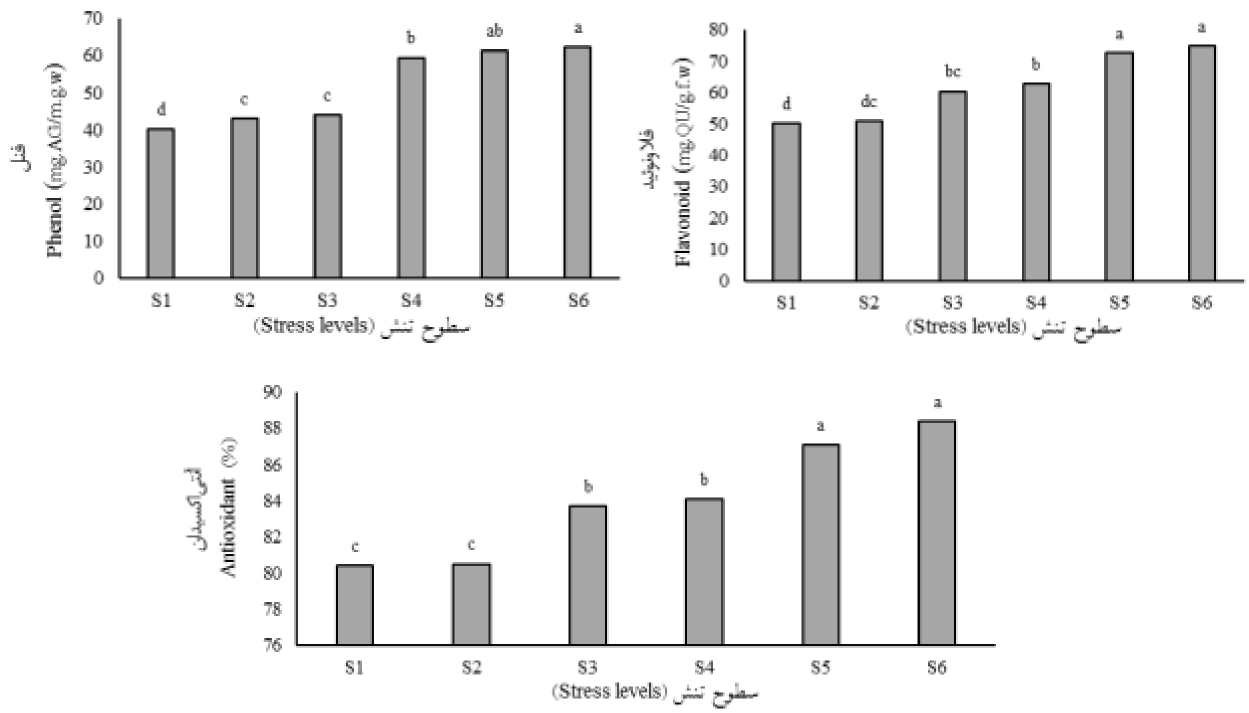
**Table 6- The results of ANOVA for the effect of irrigation water source and water stress on the biochemical characteristics of basil**

| منبع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | فنل Phenol | فلاونوئید Flavonoid | آنتی‌اکسیدان Antioxidant |
|---|---|---|---|---|
| منبع آبیاری Water source (W. S) | 1 | 4.5298ns | 75.778ns | 9.5481ns |
| تنش (S)Stress | 5 | 643.2915** | 651.5782** | 69.0017** |
| منبع آبیاری × تنش W.S × S | 5 | 0.7468ns | 51.4523ns | 2.5813ns |
| خطا Error | 24 | 65.2844 | 1601.0336 | 88.1881 |
| ضریب تغییرات C.V(%) | - | 3.1 | 13.1 | ۲/۲ |

**، * و ns: به‌ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطوح ۱ و ۵ درصد و عدم تفاوت معنی‌داری می‌باشد.

**, * and ns significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, and non-significant, respectively.

بر پایه نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین میزان فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریحان در سطوح تنش شدید S5 و S6 اتفاق افتاد اما بین این دو سطح تنش شدید، تفاوت چندانی وجود نداشت. اما کمترین میزان فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریحان در سطح تنش S1 به‌ترتیب با ۵۰/۱۵ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تازه، ۴۰/۱۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تازه و ۸۰/۴۵ درصد مشاهده شد (شکل ۲).




**شکل ۲- تاثیر سطوح مختلف تنش آبی بر میزان فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریحان**

**Figure 2- The effect of thedifferent levels of water stress on the Flavonoid, phenol and antioxidant activity in basil (SNK, $p\leq0.01$)**

**S1: 12hr (125ml), S2: 24hr (250m), S3: 48hr (250ml), S4: 72hr (500ml), S5: 72hr (250ml), S6: 48hr (125ml)**

مکانیسم چگونگی و نحوه تـاثیر تـنش‌هـای محیطـی بـر تولیـد متابولیت‌های ثانویه که نقش دفاعی بسیار حائز اهمیتی را در گیاهـان ایفا می‌نمایند، ساده نبـوده و دارای پیچیـدگی‌هـایی اسـت کـه گاهـاً دشواری‌هایی را ایجاد می‌کند. با این وجود شواهد بسـیار زیـادی نیـز

وجود دارند که نشان می‌دهند برخی از این ترکیبات دستخوش افزایش محسوس و قابل توجهی در شرایط بروز تنش می‌شوند (Koc *et al.*, 2010). در شرایط بروز تنش و به دنبال آن، کاهش عملکرد گیاه، فرایند تثبیت کربن در طی فتوسنتز در راستای تولید متابولیت های ثانویه مصرف می‌شود تا در شرایط بروز تنش از اکسیداسیون سلولی ممانعت بعمل آید (Sayadi *et al.*, 2015). ترکیبات فنلی در قالب گروه‌های الکترون دهنده و پروتون دهنده قوی، وارد عمل شده و باعث جلوگیری از تنش اکسیداتیو می‌شوند و در نهایت رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کنند (Ghorbanli *et al.*, 2012). همچنین فلاونوئیدها عمل پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد را با شناسایی تعداد و موقعیت گروه‌های OH فنلی موجود، انجام می‌دهند (Efeoglu *et al.*, 2009; Jubany-Mari *et al.*, 2010). دو و همکاران (Du *et al.*, 2020)، گزارش کردند که تنش خشکی بویژه در بلند مدت، تخصیص زیست توده به اندام های زایشی را کاهش و ظرفیت آنتی اکسیدانی را تضعیف می‌نماید و در نهایت منجر به کاهش وزن دانه خواهد شد. بحرالعلومی و همکاران (Bahrololomi *et al.*, 2019)، نشان دادند که در شرایط بروز تنش خشکی ملایم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت و پیامد آن، کاهش آسیب گونه‌های فعال اکسیژن بود که نقش حفاظتی بسیار مؤثری در مراحل فتوسنتزی گیاه را بازی می‌کند. سارکر و اوبا (Sarker and Oba, 2018)، گزارش کردند که در شرایط بروز تنش خشکی میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تاج خروس را تحت تاثیر قرار داده و در شرایط تنش خشکی متوسط و شدید، میزان آنها افزایش یافت. فرجی و همکاران (Faraji *et al.*, 2020)، بیان نمودند که تیمار تنش خشکی ملایم به‌عنوان سطح متعادلی از تنش در راستای دستیابی به سطح قابل پذیرش از متابولیت‌های ثانویه و عملکرد میوه در منطقه ساوه معرفی می‌شود. قربانلی و همکاران (Ghorbanli *et al.*, 2012)، بیان کردند که میزان آنتوسیانین، ترکیبات فنلی و پرولین گیاه دارویی کتان (*Linum usitatissimum* L.) با افزایش تنش خشکی افزایش یافت. همچنین میزان فلاونوئید در شرایط تنش خشکی FC ۲/۳ و FC ۱/۳ ابتدا افزایش و بعد کمی کاهش یافت، اما به هر حال در مقایسه با تیمار شاهد (شرایط FC) میزان فلاونوئید افزایش یافت. هم‌سنجی نتایج پژوهش حاضر با نتایج مذکور، کاملاً همسو بود.

### غلظت فلزات سنگین

نتایج تجزیه واریانس تاثیر منبع آبِ آبیاری و تنش آبی بر غلظت فلزات سنگین گیاه ریحان نشان داد که اثرات ساده منبع آب آبیاری و تنش آبی بر غلظت فلزات سرب و کادمیوم معنی‌دار بود ($P \le 0.01$). این در حالی بود که غلظت فلزات نیکل و کروم تحت تاثیر منبع آبِ آبیاری و تنش آبی قرار نگرفت. همچنین بر پایه یافته‌ها، اثر متقابل منبع آب آبیاری و تنش آبی بر میزان غلظت فلزات سرب و کادمیوم معنی‌دار بود ($P \le 0.01$) در حالی‌که تفاوت قابل توجهی بر غلظت فلزات نیکل و کروم گیاه ریحان نداشت (جدول ۷).

**جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس تاثیر منبع آبِ آبیاری و تنش آبی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی ریحان**

**Table 7- The results of ANOVA for the effect of irrigation water source and water stress on the heavy metals of basil**

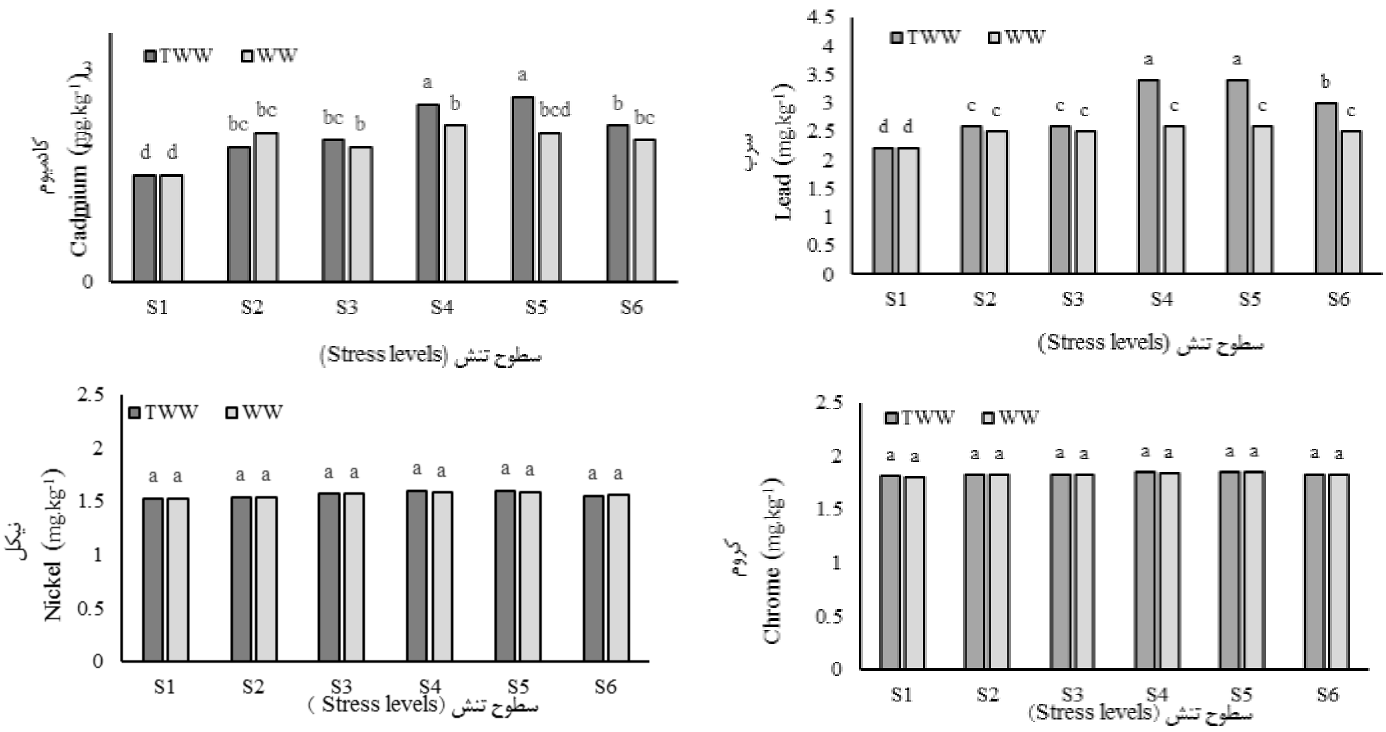
| منبع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | سرب (Pb) Lead (ppm) | کادمیوم (Cd) Cadmium (ppm) | نیکل (Ni) Nickel (ppm) | کرم (Cr) Chrome (ppm) |
|---|---|---|---|---|---|
| منبع آبیاری (Water source) | 1 | 9.009** | 11.0002** | 44.5136** | 0.25ns |
| تنش (Stress) | 5 | 6.9112* | 7.3036** | 65.2316ns | 0.7544ns |
| منبع آبیاری × تنش (W.S × S) | 5٥ | 7.4260** | 5.0116** | 52.1502ns | 1.8846ns |
| خطا (Error) | 24 | 1.2630 | 0.4283 | 1.6041 | 01675 |
| ضریب تغییرات (C.V) | - | 8.6 | 8.4 | 6.5 | 7.6 |

**، * و ns: به‌ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطوح ۱ و ۵ درصد و عدم تفاوت معنی‌داری می‌باشد.

**, * and ns significant at $p \le 0.01$ , $p \le 0.05$ and non-significant, respectively.

بر پایه نتایج مقایسه میانگین‌ها، غلظت سرب و کادمیوم در گیاه ریحان در شرایط استفاده از پساب در آبیاری به‌ترتیب با ۳/۴ و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که در مقایسه با آب چاه دچار افزایش ۱۳ و ۹ درصدی شد. این در حالی بود که غلظت کروم و نیکل دستخوش تغییرات چندانی نشد و تقریباً ثابت بود. در شرایط بروز تنش آبی غلظت سرب و کادمیوم تحت تاثیر قرار گرفت اما غلظت کروم و نیکل تغییرات قابل توجهی نداشت. بیشترین غلظت سرب و کادمیوم مربوط به سطح تنش شدید S5 و متوسط S4 بود و کمترین آن در شرایط کم‌ترین تنش (S1 و S2) مشاهده شد. بر اساس نتایج، بررسی اثر متقابل منبع آبیاری و تنش آبی بر غلظت سرب و کادمیوم نشان داد که بیشترین غلظت سرب در شرایط آبیاری با پساب و سطوح تنش S4 و S5 به‌ترتیب با ۳/۴۱ و ۳/۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد و کمترین آن مربوط به آبیاری با منبع چاه و سطح تنش S1 با ۲/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (شکل ۳). همچنین بیشترین

غلظت کادمیوم نیز مربوط به شرایط آبیاری با پساب و سطوح تنش S4 و S5 به‌ترتیب با ۲/۶ و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود و کمترین آن به شرایط آبیاری با منبع چاه و سطوح تنش S1 و S2 به‌ترتیب با ۱/۵۱ و ۱/۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختصاص یافت (شکل ۳).




**شکل ۳- اثر متقابل منبع آب آبیاری × سطوح مختلف تنش آبی بر میزان غلظت فلزات سنگین ریحان**
**(TWW: پساب تصفیه شده و WW: آب چاه)**

**Figure 3- The interaction effect of irrigation water source ×different levels of water stress on the heavy metals concentration in basil (TWW: Treated wastewater and WW: Well water) (SNK, $p\leq 0.01$)**
**S1: 12hr (125ml), S2: 24hr (250m), S3: 48hr (250ml), S4: 72hr (500ml), S5: 72hr (250ml), S6: 48hr (125ml)**

به‌طور کلی عملکرد گیاهان بویژه فعالیت فتوسنتزی و فرآورده‌های حاصل از آن، انتقال مواد و توانایی ریشه برای جذب مواد مغذی و آب با قرارگرفتن در معرض فلزات سنگین و جذب آنها، دچار کاهش می شود (Sadeghi *et al.*, 2020). گیاهان دارای یک شبکه پیچیده و مرتبط از راهکارهای دفاعی برای جلوگیری یا تحمل سمیت با فلزات سنگین هستند. موانع فیزیکی اولین خط دفاعی گیاهان در برابر فلزات هستند. برخی از ساختارهای مورفولوژیکی مانند کوتیکول ضخیم، بافت‌های فعال بیولوژیکی مانند تریکوم‌ها و دیواره‌های سلولی و همچنین همزیستی میکوریزا می‌توانند در هنگام مواجهه گیاهان با استرس فلزات سنگین به عنوان مانع عمل کنند (Emamverdian *et al.*, 2015). رای و همکاران (Ray *et al.*, 2018) بیان کردند که سبزیجات بویژه گلخانه‌ای، احتمالاً به‌دلیل نور کمتر، به میزان زیادی در معرض آلودگی به فلزات سنگین از جمله؛ (مس، روی، سرب و کادمیوم) قرار می‌گیرند. علیزادگان و همکاران (Alizadegan *et al.*, 2022b)، نشان دادند که در شرایط آبیاری با پساب شهری غلظت فلزات سرب و کادمیوم در خاک و همچنین در بخش‌های دانه، برگ و ساقه گیاه ذرت در مقایسه با آبیاری با منبع آب چاه به‌طور کاملاً محسوسی افزایش یافت. همسنجی یافته‌های این پژوهش با نتایج علیزادگان و همکاران (Alizadegan *et al.*, 2022b)، گاتا و همکاران (Gatta *et al.*, 2015) و خاولا و همکاران (Khawla *et al.*, 2019) مبنی بر افزایش غلظت فلزات سنگین بویژه سرب و کادمیوم، مطابقت داشت اما با نتایج رایچادوری و همکاران (Raychaudri *et al.*, 2014) که به ارزیابی تاثیر پساب شهری بر ویژگی‌های خاک و گیاه پرداختند و گزارش آنها دال بر بدون تغییر ماندن غلظت فلزات سنگین در طول آزمایش بود، همسو نبود. مارشنر (Marschner, 2012)، میزان بسیار اندک فلزات سنگین بویژه نیکل که جز جدایی‌ناپذیر از اوره است، را تا جایی که خطر سلامتی انسان را تهدید نکند، مشکل‌زا ندانست. غلظت مجاز کادمیوم و سرب در گیاهان به‌ترتیب توسط چانی (Chaney, 1989)، مقدار ۳-۰/۱ و باکر و بروکس (Baker and Brooks, 1989)، مقدار ۵-۲ میلی‌گرم بر

کیلوگرم گزارش شده است. بدین‌ترتیب با توجه به میزان تغییرات غلظت فلزات سرب (۴/۵-۳/۲) و کادمیوم (۶/۵-۲/۱) میلی‌گرم بر کیلوگرم در گیاه ریحان، استفاده از پساب شهری در آبیاری، نگرانی خاصی را در انباشت فلزات سنگین در اندام‌های هوایی گیاه ریحان به‌همراه نخواهد داشت.

## نتیجه‌گیری

بر پایه یافته‌های این پژوهش، آبیاری با پساب شهری و اعمال تنش آبی بر برخی ویژگی‌های گیاه ریحان اثرگذار بود. به‌طوری‌که موجب افزایش عملکرد، برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیتوشیمیایی ریحان شد. از سوی دیگر، با وجود غلظت فلزات سنگین موجود در پساب شهری مورد استفاده و انتقال آن به گیاه، غلظت این فلزات از مقادیر آستانه مجاز که از نتایج تحقیق برخی از پژوهشگران گزارش شده است، تجاوز نکرد. همچنین با توجه به محدودیت منابع آب در بخش کشاورزی می‌توان با مصرف بهینه آب و بهبود کیفیت مدیریت آبیاری، گیاه ریحان را به میزان سطوح تنش متوسط و شدید آبیاری کرد و باعث افزایش بهره‌وری آب شد. در مجموع، با توجه به بهبود کیفیت و افزایش عملکرد گیاه، استفاده از پساب شهری قابلیت توصیه و اجرایی شدن را خواهد داشت. لزوم اجرایی شدن این مهم، انجام آزمایش‌های آب و خاک و اطمینان از عدم تاثیر منفی آن در بلند مدت می‌باشد.

## سپاسگزاری

این پژوهش از محل طرح پژوهشی با شماره ۱۲-۱۴۰۱-۰۲ توسط دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری حمایت شده و بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی این دانشگاه تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع


1. Ai Nio, S., Mantilen Ludong, D.P., & Wade, L.J. (2018). Comparison of leaf osmotic adjustment expression in wheat (*Triticum aestivum* L.) under water deficit between the whole plant and tissue levels. *Agriculture and Natural Resources*, *52*(1), 33-38. https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.03.003
2. Alizadegan, F., Gholami Sefidkouhi, M.A., & Shiukhy, S. (2022a). Evaluation of treated wastewater irrigation effect on yield components and yield of maize (single cross 704). *Iranian Journal of Irrigation & Drainage*, *15*(6), 1328-1337. (In Persian with English abstract)
3. Alizadegan, F., Gholami Sefidkouhi, M.A., & Shiukhy, S. (2022b). Evaluation of wastewater effects on soil chemical characteristics, microelements concentrations, heavy metals accumulation and mize yield (Single Cross 704). *Journal of Water and Soil*, *36*(4), 1328-1337. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/JSW.2022.77424.1178
4. Al-Yasi, H., Attia, H., Alamer, Kh., Hassan, F., Esmat, A., Elshazly, S., Kadambot, H.M., Siddique, & Hessini, K. (2020). Impact of drought on growth, photosynthesis, osmotic adjustment, and cell wall elasticity in Damask rose. *Plant Physiology and Biochemistry*, *150*(1), 133-139. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.038
5. Badiei, A., Karandish, F., & Tabatabaei, S. (2017). The influence of irrigation with raw and treated municipal wastewater on wheat yield and microbial characteristics of soil and plant. *Water and Soil Science*, *26*(4.2), 215-228. (In Persian)
6. Bahrololomi, S., Raeini Sarjaz, M., & Pirdashti, H. (2019). The effect of drought stress on the activity of antioxidant enzymes, malondialdehyde, soluble protein and leaf total nitrogen contents of soybean (*Glycine max* L.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *12*(1), 17-28. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22077/escs.2018.1316.127
7. Baker, A.J., & Brooks, R. (1989). Terrestrial higher plants which hyper accumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, *2*, 81-126.
8. Boush, M., Banejad, H., Goldani, M., & Metanat, M. (2021). Evaluation of the effect of different wastewater qualities on some biochemical and morphological traits of tomato plant under deficit irrigation. *Iranian Water Researches Journal*, *15*(4), 59-67. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22034/iwrj.2021.11172
9. Chaganti, N.V., Ganjegunte, G., Niu, G., Ulery, A., Flynn, R., Enciso, M.J., Meki, N.M., & Kiniry, R.J. (2020). Effects of treated urban wastewater irrigation on bioenergy sorghum and soil quality. *Agricultural Water Management*, *228*, 78-91. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.105894
10. Chaney, R.L. (1989). Toxic element accumulation in soils and crops: protecting soil fertility and agricultural food chains. *Inorganic Contaminants in the Vadose Zone*, *4*, 140-158. https://doi.org/10.1007/978-3-642-74451-8_10
11. De Masi, L., Siviero, P., Esposito, C., Castaldo, D., Siano, F., & Laratta, B. (2006). Assessment of agronomic, chemical and genetic variability in common basil (*Ocimum basilicum* L.). *European Food Research and Technology*, *223*, 273-281. https://doi.org/10.1007/s00217-005-0201-0
12. Du, Y., Zhao, Q., Chen, L., Yao, X., & Xie, F. (2020). Effect of drought stress at reproductive stages on growth and nitrogen metabolism in soybean. *Agronomy*, *10*, 1-21. https://doi.org/10.3390/agronomy10020302

13. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., & Bekhradnia, A.R. (2008). Iron chelating activity screening, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *Afr. Journal of Biotechnology*, *32*, 43-49.
14. Efeoglu, B., Ekmekçi, Y., & Çiçek, N. (2009). Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *South African Journal of Botany*, *75*, 34-42. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2008.06.005
15. Elmer, P. (1982). Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry.
16. Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdoran, F., & Xie, Y. (2015). Heavy Metal Stress and Some Mechanisms of Plant Defense Response. *The Scientific World Journal*, 1-18. https://doi.org/10.1155/2015/756120
17. Faraji, S., Hadadinejad, M., Abdoosi, V., Basaki, T., & Karami, S. (2020). Effects of drought stress on the phenol, flavonoid and cyanidin 3-glocoside content of juice and fruit yield in native pomegranate genotypes (*Punica granatum* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *35*(6), 889-901. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2019.123934.2426
18. Farooqi, Z.U.R. (2021). Phytoremediation of inorganic pollutants: An eco-friendly approach, its types and mechanisms. *Plant Environment*, *1*(20), 110-129.
19. Fattahi, K., Babazadeh, H., & Shirshahi, F. (2016). Yield Barley and its Components Irrigated with Brackish and Grey Water. *Water Resources Engineering*, *8*(27), 23-30. (In Persian with English abstract). https://doi.org/20.1001.1.20086377.1394.8.27.3.5
20. Francia, E., Tondelli, A., Rizza, F., Badeck, F.W., Thomas, W.T.B., van Eeuwijk Romagosa, I., Stanca, A.M., & Pecchioni, N. (2013). Determinants of barley grain yield in drought-prone Mediterranean environments. I*talian Journal of Agronomy*, *8*(1), 1-8. https://doi.org/10.4081/ija.2013.e1
21. Gatta, G., Libutti, A., Gagliardi, A., Beneduce, L., Brusetti, L., Borruso, L., Disciglio, G., & Tatantino, E. (2015). Treated agro-industrial wastewater irrigation of tomato crop: Effects on qualitative/quantitative characteristics of production and microbiological properties of the soil. *Agricultural Water Management*, *149*, 33-43. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2014.10.016
22. Ghasemi, K., Ghasemi, Y., & Ebrahimzadeh, M.A. (2009). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sci*ences, *22*(3), 277-281.
23. Ghazavi, R., & Orest, M. (2016). Investigation the effect of irrigation with municipal wastewater on accumulation of some pollutants and chemicals elements in plant and its effect on their ecological characteristics (A case study: *Eucalyptus Globulus*). *Journal of Plant Ecosystem Conservation*, *4*(8), 13-29. (In Persian with English abstract)
24. Ghorbanli, M., Bakhshi Khaniki, G., & Zakeri, A. (2012). Investigation on the effects of water stress on antioxidant compounds of *Linum usitatissimum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *27*(4), 647-658. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2012.4514
25. Hajihashemi, S., Mbarki, S., Skalicky, M., Noedoost, F., Raeisi, M., & Brestic, M. (2020). Effect of wastewater irrigation on photosynthesis, growth, and anatomical features of two wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Water*, *12*, 1-12. https://doi.org/10.3390/w12020607
26. Halim, G., Emam, Y., & Shakeri, E. (2018). Evaluation of yield, yield components and stress tolerance indices in bread wheat cultivars at post-anthesis irrigation cut-off. *Journal of Crop Production and Processing*, *7*(4), 121-134. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.29252/jcpp.7.4.121
27. Jubany-Marí, T., Munné-Bosch, S., & Alegre, L. (2010). Redox regulation of water stress responses in field-grown plants. Role of hydrogen peroxide and ascorbate. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(5), 351-358.
28. Kamali, M., Goldani, M. & Farzaneh, A. (2012). The effect of different irrigation regimes and hydrogen peroxide on growth and photosynthetic parameters on ornamental amaranth (*Amaranthus tricolor* L.). *Journal of Water and Soil*, *26*(2), 309-318. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/JSW.V0I0.14154
29. Karimi, S., Zahedi, B., & Mumivand, H. (2020). Investigating the effect of drought stress on growth, essential oil content and some physiological traits of four basil cultivars (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Plant Production*, *27*(2), 201-2013.
30. Khawla, K., Besma, K., Enrique, M., & Mohamed, H. (2019). Accumulation of trace elements by corn (*Zea mays*) under irrigation with treated wastewater using different irrigation methods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *170*, 530-537. https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2018.12.025
31. Koc, E., İslek, C., & Üstun, A.S. (2010). Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science*, *23*, 1-6.
32. Lindsay, W.L., & Norvell, W. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, *42*, 421-428.
33. Mahfooz, Y., Yasar, A., Guijan, L., Islam, Q.U., Tabinda Akhtar, A.B., Rasheed, R., Irshad, S., & Naeem, U. (2020). Critical risk analysis of metals toxicity in wastewater irrigated soil and crops: a study of a semi-arid developing region. *Scientific Reports*, *10*, 12845. https://doi.org/10.1038/s41598-020-69815-0
34. Maleki, A., Naderi, A., Siyadat, A., Tahmasebi, A., & Fazel, Sh. (2012). The effect of drought stress in different phenological stages on soybean yield and yield components. *Journal of Research in Agricultural Sciences*, *4*(15), 71-82. (In Persian)
35. Marschner, P. (2012). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plant*. 3rd ed. Academic, London.

36. Mehraban, A., Tobe, A., Gholipour, A., Amiri, E., Ghafari, A., & Rostaii, M. (2019). The effects of drought stress on yield, yield components, and yield stability at different growth stages in bread wheat cultivar (*Triticum aestivum* L.). *Polish Journal Environmental Studies*, *28*(2), 739-746. https://doi.org/10.15244/pjoes/85350
37. Moghadam, M., Alirezaei Noghondar, M., Selahvarzi, Y., & Goldani, M. (2015). The effect of drought stress on some morphological and physicochemical characteristics of three cultivars of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Iranian Journal of Horticultural Science*, *46*(3), 507-521. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijhs.2015.55870
38. Mousavi, S.R., & Shahsavari, M. (2014). Effects of treated municipal wastewater on growth and yield of maize (*Zea mays*). *Biological Forum*, *6*(2), 228-233.
39. Nabavi, S.M., Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Hamidinia, A., & Bekhradnia, A.R. (2008). Determination of antioxidant activity, phenol and flavonoids content of *Parrotia persica* Mey. *Pharmacologyonline*, *2*, 560-567.
40. Nazario, A.A., Zution, I., Augusto Agnellos Barbosa, E., Nazario Silva dos Santos, L., Rodrigues Cavalcante Feitosa, D., & Matsura E.E. (2019). Impact of the application of domestic wastewater by subsurface drip irrigation on the soil solution in sugarcane cultivation. *Applied and Environmental Soil Science*, *4*, 2-11. https://doi.org/10.1155/2019/8764162
41. Panoras, A., Evgenidis, G., Bladenopoulous, S., Melidis, V., Doitsinis, A., Samaras, I., Zdragkas, A., & Matsi, Th. (2003). Corn irrigation with reclaimed municipal wastewater. *GlobalNEST International Journal*, *5*(1), 39-45.
42. Raeini-Sarjaz, M., & Shiukhy Soqanloo, S. (2014). Evaluation of the effect of geographical aspects and fruit location within orange tree canopy on Sangin orange fruit quality. *Journal of Agricultural Meteorology*, *2*(1), 57-66. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22125/AGMJ.2020.223313.1094
43. Ray, R. R. L., Fares, A. & Risch, E. (2018). Effects of drought on crop production and cropping areas in Texas. *Agricultural & Environmental Letters*, *14*, 1-5.
44. Raychaudri, S., Raychaudri, M., Rautaray, S.K., & Kumar, A. (2014). *Impact of urban wastewater on soil and crop*. Edition: DWM Bulletin No. 64. Publisher: Directorate of Water Management, Bhubaneswar, Orissa. 32pp.
45. Razmi, N., Iran nejad, J., Khanzadeh, H. & Soheili Mogaddam, B. (2013). The effects of different irrigation regimes on the morphological and physiological characteristics of three soybean cultivars (*Glycine max* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*, *7*(1), 57-70. (In Persian with English abstract)
46. Sadeghi, M., Noroozi, M., Kargar, F., & Mehrbakhsh, Z. (2020). Heavy Metal Concentration of Wheat Cultured in Golestan Province, Iran and Its Health Risk Assessment. *Journal of Environmental Health and Sustainable Development*, *5*(2), 993-1000. https://doi.org/10.18502/jehsd.v5i2.3386
47. Sarker, U., & Oba, Sh. (2018). Drought stress enhances nutritional and bioactive compounds, phenolic acids and antioxidant capacity of Amaranthus leafy vegetable. *BMC Plant Biology*, *18*(258), 1-15. https://doi.org/10.1186/s12870-018-1484-1
48. Sayadi, A., Ahmadi, J., Asghari, B., & Hoseini, S.M. (2015). Evaluation of drought and salinity stress effects on phenolic compounds of the medicinal plant (*Thymus vulgaris* L.). *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, *2*(4), 50-61. (In Persian). https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.055
49. Shiukhy-Soqanloo, S., Mousavi-Baygi, M., Torabi, B., & Raeini-Sarjaz, M. (2021a). Evaluation of climate change effects on irrigated wheat CV. Mehregan yield under drought stress condition (Case study: Varamin). *Journal of Agricultural Meteorology*, *9*(2), 15-28. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22125/agmj.2021.297373.1121
50. Shiukhy-Soqanloo, S., Mousavi-Baygi, M., Torabi, B., & Raeini-Sarjaz, M. (2021b). *The climate change effect on crop development, growth and yield under drought stress by using SSM model*. Ph.D. Agricultural Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.
51. Singh, A., & Agrawal, M. (2012). Effects of waste water irrigation on physical and biochemical characteristics of soil and metal partitioning in *Beta vulgaris* L. *Agriculture Researches*, *4*, 379–391. https://doi.org/10.1007/s40003-012-0044-4
52. Singh, D.V., Upadhyay, A.K., Singh, R., & Singh, D.P. (2021). Implication of municipal wastewater on growth kinetics, biochemical profile, and defense system of Chlorella vulgaris and Scenedesmus vacuolatus. *Environmental Technology & Innovation*, *26*, 1-13. https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102334
53. Slama, I., M'Rabet, R., Ksouri, R., Talbi, O., Debez, A., & Abdelly, C. (2017). Effects of salt treatment on growth, lipid membrane peroxidation, polyphenol content, and antioxidant activities in leaves of *Sesuvium portulacastrum* L. Arid Land Research and Management, *31*(4), 404-417. https://doi.org/10.1080/15324982.2017.1329759
54. Swain, A., Singh, S. K., Mohapatra, K.K., & Patra, A. (2020). Effect of sewage sludge application on yield, nutrients uptake and nutrient use efficiency of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Annals of Plant and Soil Research*, *22*(3), 305-309.
55. Tripathi, V., Rajput, T.B.S., & Patel, N. (2016). Biometric properties and selected chemical concentration of cauliflower influenced by wastewater applied through surface and subsurface drip irrigation system. *Journal of Cleaner Production*, *139*, 142-153. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.08.054

56. Vahdi, N., & Gholinezhad, E. (2015). Evaluation of drought tolerance of some soybean cultivars. *Journal of Water Research in Agriculture*, *29*(1), 1-9. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/jwra.2015.101321
57. Yang, J., Cao, J., Xing, G., & Yuan, H. (2015). Lipid production combined with biosorption and bioaccumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by oleaginous microalgae *Chlorella minutissima* UTEX2341. *Bioresource Technology*, *175*, 537-544. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.124
58. Yazdani, A., Saffari, M., & Ranjbar, Gh. (2017). Effect of treatment with treated municipal wastewater on grain yield and accumulation of heavy metals in grain of barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.). *Iranian Journal of Crop Sciences*, *4*, 284-296. (In Persian with English abstract)